Über das Berberin

mit besonderer Berücksichtigung seiner oxydativen Überführung in das Hydrastinin.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
einer Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Josef Weickenmeier

aus Murnau.

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Februar 1940.

Buchdruckerei Max Döres, Erlangen, Rückertstraße 1
1940

1940 №134

Dekan: Professor Dr. J. Schwemmle.
Referent: Professor Dr. R. Dietzel.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner lieben Braut!

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für pharmazeutische und angewandte Chemie der Universität Erlangen, das unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Richard Dietzel steht, in der Zeit vom Wintersemester 1938/39 bis Wintertrimester 1940 ausgeführt.

Die Anregung hiezu erhielt ich von Herrn Professor Dr. Richard Dietzel, der die Arbeit auch leitete und mir bei ihrer Ausführung mit seinem Rate jederzeit in liebenswürdiger Weise zur Seite stand.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Richard Dietzel für das Wohlwollen und Interesse, das er meinen Studien entgegenbrachte, auch an dieser Stelle herzlichen Dank auszusprechen.

Inhalt.

	Seite
I. Einleitung	9
a) Allgemeines	9
b) Nomenklatur	10
c) Konstitution	12
II. Reinigungsmethoden	13
a) Ältere Verfahren	13
b) Theoretische Grundlagen zur chromatographischen Adsorption	16
c) Beschreibung der Versuche	19
1. Das Adsorptionsmittel	19
2. Das Lösungsmittel	20
3. Apparatur und Arbeitsweise	20
4. Versuchsergebnisse	22
III. Spektographische Untersuchungen des reinen Berberins	26
a) Arbeitsweise	28
b) Versuchsergebnisse	29
c) Erläuterungen zu den Versuchen	31
IV. Versuche zur Oxydation des Berberins	34
Die Oxydation des Berberins	37
V. Die Berberilsäure	43
Schmelzpunktbestimmung	43
Analyse	44
Absorptionsspektrum der Berberilsäure	44
Die Hydrolyse der Berberilsäure	45
VI. Zusammenfassung	47

I. Einleitung.

a. Allgemeines.

Um die Jahrhundertwende befaßten sich mehrere Autoren mit der Erforschung des Alkaloids Berberin [1]). In neuerer Zeit griffen vor allem Feist und Awe [2]) auf dieses sehr interessante Gebiet zurück und brachten mit ihren Arbeiten Klarheit in die verwickelte und vorher recht unübersichtliche Nomenklatur der Berberisalkaloide.

Berberin, das gelbe Alkaloid von Berberis vulgaris, wurde 1826 von den französischen Chemikern Chevallier und Pelletan [3]) in Xanthoxylum clava entdeckt und von ihnen unter dem Namen Xanthopicrit beschrieben. Die dieser Entdeckung folgenden Untersuchungen zeigten, daß das Alkaloid in verschiedenen Pflanzen gebildet wird, die nach ihrer Einteilung im natürlichen Pflanzensystem in keinem verwandschaftlichen Verhältnis zueinander stehen. Es wurde ermittelt in Cocolus palmatus [4]), in Berberis vulg. [5]), Coeloelin polycarpa [6]) und in Hydrastis canadensis [7]).

Chevallier und Pelletan machten, obwohl sie einige Eigenschaften des Berberins eingehend beschrieben, keinen Versuch, das Produkt zu analysieren. Erst 1835 sind die ersten Analysenergebnisse von Buchner und Herberger [8]) veröffentlicht worden. Die beiden Autoren kamen, unter Be-

1) W. H. Perkin Soc. **55,** 63, (1889); ebenda **57,** 991, (1890), ebenda **97,** 505, (1910).
Gadamer Arch. **239,** 648, (1901); ebenda **243,** 31, (1905); ebenda **248,** 670 (1910).

2) Arch. **270,** 156 (1932).

3) Journal d. Chim. Médicale **2,** 314 (1826).

4) Boedecker Ann. **66,** 384 (1848).

5) Buchner Ann. **24,** 228 (1835).

6) Stenhouse Ann. **95,** 108 (1855); **105,** 360 (1858).

7) Mahla Sill. Am. j. (2) **33,** 43 (1862).

8) Ann. **24,** 228 (1835).

nützung der damals üblichen Atomgewichte zu der Bruttoformel: $C_{33}H_{36}N_2O_{12}$. Fleitmann[1]), der nicht nur das Berberin selbst, sondern auch dessen Salze analysierte, stellte dann die Analysenergebnisse von Buchner und Herberger richtig in der Formel $C_{42}H_{18}N_2O_9$. Denselben Weg wie Fleitmann schlug ferner Perrins[2]) ein, d. h. auch er benützte die Salze des Berberins zu seinen Analysen. Zum ersten Mal taucht bei ihm die bis heute noch nicht veränderte Bruttoformel des Berberins auf, die sich auf die neuen Atomzahlen stützt: $C_{20}H_{17}NO_4$. Anschließend an die Arbeiten Perrins wären noch die aufschlußreichen Untersuchungen von W. H. Perkin[3]) zu nennen, dem wir auch die beste Aufklärung über das Alkaloid überhaupt zu verdanken haben.

In neuerer Zeit, als man die quartäre Basennatur des Berberins erkannt hatte, errang es wieder das besondere Interesse der Chemiker und Pharmazeuten. Es zeigte sich, daß Berberin in drei Formen zu reagieren vermag. Diese Eigenschaften und die verhältnismäßig leichte Zugänglichkeit aus der Berberiswurzel veranlaßte eine Reihe von Arbeiten, durch die seine Konstitution schnell erkannt wurde[4]), durch die aber auch das Berberin zu einem „Prototyp" einer ganzen Klasse von ähnlich gebauten Alkaloiden wurde, die man im Laufe der Jahre auffand und die, teils wie das Berberin quartäre, teils wie das Tetrahydroberberin tertiäre Basen darstellen.

b. Nomenklatur.

Bei wenigen Inhaltsstoffen ist es verhältnismäßig leicht möglich, sie nach dem lateinischen Namen der Pflanze zu bezeichnen. Sind aber, wie z. B. im Opium, mehr als ein Dutzend Alkaloide vorhanden, so ist es einerseits oft nicht leicht, für jedes einen Namen zu prägen und andererseits notwendig, die einzelnen in ihrer Konstitution erkannten Stoffe exakt zu formulieren, indem man von einer Verbindung ausgeht, die allen gemeinsam ist und die es gestattet, die übrigen davon abzuleiten.

Allgemein ist man bei Naturstoffen bestrebt gewesen, von sauerstoffreien Grundsubstanzen aus die Nomenklatur zu regeln.

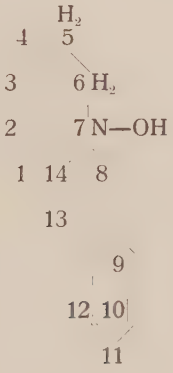
1) Ann. **59**, 160 (1846).
2) Ann. Suppl. **2**, 176 (1862/1863).
3) Soc. **55**, 63 (1889).
4) Perkin und Robinson Soc. **127**, 740 (1925).
E. Späth und Quientensky Ber. **58**, 2267 (1925).

Es sei nur an das Purin, den Grundstoff der Harnsäure, des Theobromins, Koffeins, Adenins usw., sowie an das Porphin, den Grundstoff des Hämins, der Porphyrine und einer großen Anzahl von Chlorophyllderivaten erinnert.

Bei den den berberinartigen Alkaloiden nahe verwandten Basen, die konstitutionell durch die Kombination des Phenanthrenringsystems mit dem Isochinolinringsystem gekennzeichnet sind, ist als Grundstoff von Gadamer[1]) das „Aporphin" gewählt worden, das von ihm auch synthetisch hergestellt wurde.

Man hätte nun ebenso tertiäre Basen als Ausgangsmaterial für die Erforschung des Ringsystems der Berberin-Alkaloide wählen können. Da es sich aber bei dieser Alkaloidklasse hauptsächlich um quartäre Basen handelt, hat als erster Gadamer versucht, diese Alkaloide auf eine Grundsubstanz zurückzuführen, die zwar sauerstoffhaltig ist, aber den Grundtyp der Berberinalkaloide gut wiedergibt (Formel 1). Das hier vorliegende Ringsystem wurde bisher nicht bezeichnet.

Formel 1



W. H. Perkin und seine Mitarbeiter haben sich mehrfach über die Nomenklatur dieser Alkaloide geäußert und vorgeschlagen, die der Formel 1 entsprechende Verbindung „Protoberberin zu nennen[2]).

Demnach ist Berberin selbst als ein 2,3-Methylendioxy-9,10-dimethoxyprotoberberin oder besser protoberberiniumhydroxyd zu bezeichnen, da es sich um eine quartäre Base

1) Arch. **263,** 81 (1925).
2) Soc. **113,** 503 (1918).

handelt. Die Verbindung 1, die ihrem chemischen Charakter nach auch eine quartäre Base darstellt, muß ebenfalls entsprechend bezeichnet werden. Genauigkeit ist hier unbedingt erforderlich, weil es sich um Grundstoffe handelt. Bereits W. H. Perkin jun.[1]) hat auf Ungenauigkeiten in der Bezeichnung und Nomenklatur der Berberinderivate hingewiesen, ohne daß von ihm und in der Folgezeit brauchbare Verbesserungsvorschläge gemacht worden wären. Erst Awe[2]) nahm sich dieser Frage in der jüngsten Zeit wieder an, und er glaubt eine exakte Bezeichnungsweise dadurch zu erreichen, daß er nicht die der Formel 1 entsprechende Verbindung als Grundstoff wählt, sondern deren „Tetrahydro"verbindung, für die er den Namen „Berbin" vorschlägt. Dadurch ist erreicht, daß alle berberinähnlichen Alkaloide und die Derivate des Berberins sich einwandfrei und eindeutig kennzeichnen lassen. Mit der Bezeichnung der Grundsubstanz als „Berbin" dürften die Nomenklaturschwierigkeiten des Berberins im wesentlichen behoben sein. Berberin ist dann als 2,3-Dioxymethylen- 11,12 dimethoxy-8,9, 16,17-dehydroberbiniumhydroxyd zu bezeichnen.

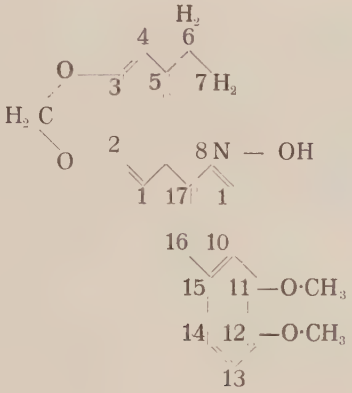
c. Konstitution.

Um einen Einblick in das Verhalten des Berberins gegen chemische Agenzien zu gewinnen, muß vor allem ein klares Bild über die Konstitution dieses Stoffes geschaffen werden. Ein solches Bild war lange Zeit verwaschen, wenig eindeutig und unsicher. Erst durch spätere Arbeiten, an denen in hervorragendem Maße E. Schmid und seine Schüler[3]) sowie gewissermaßen abschließeud Perkin jun.[4]) beteiligt waren, ist die Konstitutionsaufklärung des Berberins auf eine einigermaßen sichere Basis gestellt worden.

Die Formeln Gadamer's schließlich werden sowohl den Oxydationsprodukten des Berberins als auch seiner optischen Inaktivität gerecht. Sie konnten im allgemeinen durch das Experiment erhärtet werden. Jedoch mußte Gadamer später auf Grund von Feststellungen, die Freund[5]) hinsichtlich gewisser Beziehungen zwischen Berberin und Hydrastinin machte,

1) loc. cit.
2) loc. cit.
3) Arch. **228,** 596 (1890).
4) loc. cit.
5) Ber. **37,** 4673 (1904).

die Formeln revidieren, indem die Dioxymethylengruppe in eine andere Stellung verwiesen werden mußte. Das nun feststehende Formelbild:



Formel 2

wurde durch Synthese bewiesen.

Hinsichtlich der therapeutischen Verwendung des Berberins ist erwähnenswert, daß es eine Reihe von Auswirkungen im menschlichen Organismus zeigt, die ein gutes Verständnis von seiner Heilkraft vermitteln können. Bei der Aufnahme in das Blut wird sowohl das Atem- als auch das Gefäßsystem angeregt und bei akuten oder subchronischen Erschöpfungszuständen eine weitreichende Verbesserung des Kreislaufverhältnisses, Verlangsamung des Pulses und Vertiefung der Atmung ausgelöst.

Von Bedeutung ist das Berberin wegen seiner Überführbarkeit in das pharmazeutisch-therapeutisch wichtige und wertvolle Hydrastinin, über die später ausführlich berichtet wird.

II. Reinigungsmethoden.

a. Ältere Verfahren.

Bei Durchsicht der in der Literatur über das Berberin vorliegenden Arbeiten kann man feststellen, daß fast jeder der vielen Autoren einen anderen Weg zur Reinigung des Alkaloids einschlug. Um einen Überblick über die Brauchbarkeit und Güte der einzelnen Methoden zu gewinnen, galt es zunächst diese angegebenen Methoden nachzuarbeiten.

Bei der großen Zahl der unter den verschiedensten Gesichtspunkten und mit unterschiedlichen Zweckrichtungen vorgenommenen Arbeiten, von 1890 bis etwa 1910 ist es erklärlich, daß viele der Reinigungsmethoden, die dem einen Autor genügten von dem anderen als ungenügend abgelehnt wurden. So konnte beispielsweise Schielbach[1]), ein Schüler von E. Schmidt, feststellen, daß das Berberin, das er nach einer Arbeitsvorschrift von Fleitmann[2]) herstellte, nicht den Anforderungen entsprach, die an die Reinheit des Präparats gestellt werden müssen. Er selbst gab an, daß er den besten Reinheitsgrad erzielte, wenn er zu einer heißen Lösung des Alkaloidsulfats in verdünntem Alkohol völlig chlorfreies frisch gefälltes Bariumkarbonat zusetzte und das Präparat nach dem Erkalten im Vakuum eindämpfte.

Gaze[3]) ein anderer Schüler E. Schmidt's schlug den Weg über das Berberinnaceton ein. Er stellte es so her, daß er eine wässrige Lösung des Berberinsulfats mit Aceton versetzte und das Gemisch auf dem Wasserbad bis zur vollkommenen Lösung des Berberins erhitzte. Der heißen, zuvor filtrierten Lösung fügte er Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion hinzu. Die Mischung wurde hierbei sofort milchig getrübt. Das gebildete Berberinaceton schwamm zunächst in Gestalt von öligen Tropfen auf der Oberfläche der Flüssigkeit. Schüttelte er aber die trübe Mischung kräftig durch, so wurde dieselbe vollkommen klar, indem sich die Hauptmenge des gebildeten Berberinacetons aus der heißen Lösung kristallinisch abschied. Zur Abspaltung des Acetons aus dem Berberinaceton verwandte Caze Chloroform, das er zwölf Stunden lang am Rückflußkühler auf dem Wasserbad mit Berberinaceton erwärmte. Er erhielt Berberin in Form von gelben Nadeln, die einen Stich ins gelbbraune hatten.

Perkin[4]) gab den folgenden Weg an: Berberinhydrochlorid wurde aus salzsäurehaltigem Wasser 2mal umkristallisiert. Dabei erhielt er schöne, seidig glänzende Nadeln, die er in heißem Wasser auflöste. Aus dieser Lösung konnte er das Alkaloid mit einem Überschuß von Natriumkarbonat zurückerhalten. Die sich beim Erkalten ausscheidenden Nadeln wurden von der Mutterlauge abgetrennt, zunächst mit heißem Wasser ausgewaschen und dann wiederholt aus siedendem Alkohol umkristallisiert.

1) Arch. **228**, 595 (1890).
2) Ann. **59**, 160 (1846).
3) Arch. **228**, 607 (1890).
4) Soc. **55**, 63 (1889).

Diese Arbeitsweise wurde später von Perkin[1]) so abgeändert, daß er das Handelspräparat aus Wasser umkristallisierte und dann die wässrige Lösung mit einer geringen Menge Calciumkarbonat aufkochte. Durch diese Behandlung wurde die anfänglich gelbe Flüssigkeit braun gefärbt. Aus der abfiltrierten Lösung kristallisierte das Alkaloid beim Erkalten in langen bräunlichen Nadeln aus.

Bei der experimentellen Durcharbeitung dieser Verfahren müssen zwei Punkte als wenig günstig angesehen werden. Einmal sind die Reinigungsmethoden von vielen Prozessen begleitet, bei welchen eine große Menge der wertvollen Substanz verloren geht. Zum andern aber können die erzielten Produkte keinen Anspruch auf Einheitlichkeit erheben. Schon äußerlich macht sich dies an dem verschiedenen Aussehen „gereinigter" Präparate bemerkbar. Schmelzpunktbestimmungen nach dem allgemein üblichen makroskopischen Verfahren zeigen zwar keine merklichen Unterschiede, bestimmt man jedoch den Schmelzpunkt nach der von L. und A. Kofler[2]) angegebenen Mikromethode, so wird deutlich, daß die Schmelzpunkte der verschiedenen Kristalle nicht einheitlich sind.

Es war aber für den Zweck der nachstehend beabsichtigten Untersuchung als unumgänglich notwendig zu erachten, von einem streng einheitlichen Produkt mit größtem Reinheitsgrad auszugehen. Die präparative Chemie ging besonders in jüngster Zeit dazu über, Stoffe, bei welchen alle anderen Reinigungsmethoden versagten, auf chromatographischen Wege rein darzustellen. In diesem Zusammenhang sei u. a. besonders an die Arbeiten von Zechmeister auf dem Gebiete der Enzymologie erinnert. Die Methode der chromatographischen Adsorption bietet in verschiedener Hinsicht große Vorteile. Einmal tritt kein Substanzverlust auf, und dann liefert sie bei Stoffen mit gutem Adsorptionsvermögen ausgezeichnete Reinheitsgrade. Auch bei Berberin waren wie vorweg bemerkt sei, die erzielten Ergebnisse höchst befriedigend. Da die chromatographische Adsorptionsanalyse einige physikalisch-chemische Tatsachen voraussetzt, sei zunächst auf ihre theoretischen Grundlagen kurz eingegangen.

---

1) Soc. 57, 993 (1890).

2) L. und A. Kofler „Mikroskopische Methoden in der Mikrochemie" Verlag E. Haim Wien und Leipzig 1936.

b. Theoretische Grundlagen zur chromatographischen Adsorption.

Schüttelt man die gemeinsame Lösung von mehreren stark gefärbten Verbindungen mit einem geeigneten Adsorptionsmittel, so findet je nach den Mengenverhältnissen und dem Adsorptionskoeffizienten eine Verteilung zwischen den beiden Phasen statt. Günstige Bedingungen vorausgesetzt, werden die einzelnen Farbstoffe mehr oder weniger tief in das Adsorptionsmittel eindringen und sich dort anreichern. Das Adsorbat ist dann ein Gemisch, zu dessen Zerlegung kein einfacher Weg zur Verfügung steht. Günstiger aber liegen die Verhältnisse, wenn die Durchströmung des Adsorbens nur in einer Richtung erfolgt. Diese Versuchsanordnung wird in der chromatographischen Adsorptionsanalyse verfolgt.

Die theoretischen Grundlagen der Chromatographie wurden bereits vor ihrem Entdecker erkannt[1]). Mehrere Stoffe zeigen gegenüber dem gleichen Adsorbens eine verschieden starke Adsorptionsaffinität und es macht sich ein auswählendes Prinzip geltend. Die einzelnen Komponenten schichten sich in der sinkenden Reihenfolge ihrer auf die Oberflächenspannung ausgeübten, verminderten Wirkung. Über die bei der üblichen Arbeitsweise sich abspielenden Teilvorgänge sei folgendes ausgeführt, wobei der Einfachheit halber das Schicksal eines Farbstoffgemisches verfolgt sei.

Betrachtet man die gesamte Aufnahmefähigkeit eines Adsorbens als konstant, so werden sich um diese Oberflächenkräfte alle in der Lösung vorliegenden Substanzen gleichzeitig, wenn auch mit verschiedenem Erfolg bewerben. Reicht die Masse des Adsorptionsmittels nicht aus, so wird nur die mit der stärksten Affinität ausgestattete Farbstoffart festgehalten und hiedurch die adsorbierende Oberfläche erschöpft.

Dies ist in der Tat der Fall, wenn die auf die Säule gegossene Lösung zunächst mit der obersten, hinreichend dünn gedachten Scheibe in Berührung kommt. Durch das Passieren der letzteren ist also die Lösung nur um den bestadsorbierenden Inhaltsstoff verdünnter geworden. Im übrigen bleibt sie unverändert und tritt nun in die nächst tiefer gelegene Schicht ein, wo der Restbetrag der Substanz allmählich erschöpft und festgehalten wird. Ihre Stelle übernimmt eine andere, welche

1) M. Tswett: Die Chromophylle in der Tier- und Pflanzenwelt (Chromofilli w rastitelnom i schivotnom Mirje). Warschau: Tipogr. Warshawakago utschebnago Okruga 1910. Russ.

nunmehr in Bezug auf die Adsorptionskraft an erste Stelle gerückt ist und in der allmählich tiefer sickernden Flüssigkeit verarmt, nachdem auch dieser zweite Farbstoff unterhalb des ersten in der Säule festgehalten wird. So läuft das Spiel weiter, bis die Lösung praktisch farblos geworden ist. Schließlich erblickt man in der von oben nach unten verlaufenden Reihenfolge der ausgebildeten Farbzonen ein Schema der Adsorptionsrangordnung, welche alle Komponenten der Lösung umfaßt.

Diese Erläuterung ist aber durchaus noch nicht zufriedenstellend. Sie gibt die einzelnen Vorgänge nur in groben Zügen wieder, während die feineren Teilprozesse noch der Aufklärung harren. Denn die Annahme, daß die Oberfläche eines Körnchens von vornherein die mit der größten Affinität ausgestattete Komponente binde, dürfte nicht streng zutreffen. Vielmehr werden auch Bruchstücke des übrigen Farbstoffinhalts in der Elementarschicht hängen bleiben. Diese werden jedoch von der stets nachfolgenden stärkeren Komponente aus ihrer Adsorptionsbindung verdrängt. Sie verlassen die feste Phase und gelangen wieder in Lösung. Nach der Freilegung werden sie vom Flüssigkeitsstrom in den nächst tieferen Bereich mitgerissen, wo sie, vorübergehend festgehalten, wieder eine Verdrängung erleiden. Eine endgültige Ablagerung erfolgt erst, wenn nichts „Stärkeres“ mehr nachkommt, wenn also der Farbring des Verdrängers in einem höheren Säulenteil bereits fertig ausgebildet ist.

Unter sonst gleichbleibenden Versuchsbedingungen ist also nur die Reihenfolge der einzelnen Körper gegeben, während der in dem Absorbens absolut eingenommene Platz jedes Farbstoffes von der Art der übrigen abhängt.

Interessant sind die Vorgänge, die sich beim „Entwickeln“ des Chromatogramms abspielen. Saugt man reines Lösungsmittel nach, so wird Farbstoff herausgelöst. Die Verteilung zwischen den einzelnen Phasen steuert in der Elementarschicht dem betreffenden Adsorptionsgleichgewicht zu. Ist dasselbe erreicht worden, so verläßt die Lösung hinsichtlich der Konzentration an dem betreffenden Farbstoff unverändert die Elementarzone. Sobald sie aber auf pigmentfreies Gebiet stößt, setzt von neuem Adsorption ein, und nun läßt sich der Farbstoffinhalt von einer Reihe dünngedachter Scheiben schließlich vollständig abfangen. Die Flüssigkeit fließt also farblos weiter, nachdem ihr Pigmentgehalt, im Verlauf der erwähnten Vorgänge, allmählich von Null bis zu einem Grenzwert angestiegen und dann wieder auf Null zurückgefallen ist.

Solche Vorgänge spielen sich an mehreren Stellen der Adsorptionssäule gleichzeitig ab. Jede Volumeneinheit löst Bruchteile des Farbstoffes heraus und transportiert sie nach einem tiefer gelegenen Gebiet. Die Summe aller Teilvorgänge kommt in einem allmählichen Abwärtswandern der Säule zur Geltung. Es ist klar, daß die Wanderung der einzelnen Zonen mit ungleichen Geschwindigkeiten einsetzen und verlaufen wird. Dies geschieht schon mit Rücksicht auf die verschiedenen Adsorptionskoeffizienten. Im allgemeinen werden die am schwächsten adsorbierten und am leichtesten eluierbaren Komponenten am raschesten nach unten wandern. Da aber gerade solche Farbstoffe schon von Anfang an die untersten Abschnitte des Chromatogramms gebildet haben, müssen sich die weißen Zwischenräume vergrößern, oder sie zeigen sich überhaupt erst jetzt beim Entwickeln. Das Chromatogramm dehnt sich aus, die Einzelschichten werden schärfer ausgeprägt. Die aus dem Rohr gepreßte Säule kann zerschnitten werden.

Zu der nun folgenden Elution kann das geeignete Mittel empirisch gewählt werden.

Diese chromatographische Arbeitsweise wurde zur Reinigung der von uns zu benützenden Berberinpräparate herangezogen. Dabei trat der folgende Umstand noch als wesentliche Verbesserung hinzu:

Im Gegensatz zu den tertiären Basen geht Berberinhydrochlorid als das Salz einer quartären Base durch die Säule hindurch. Man kann also in dem Filtrat der chromatographierten Lösung Berberinhydrochlorid erwarten. Tatsächlich fielen auch die Reaktionen, sowohl auf Berberin, als auch auf Cl-Ion positiv aus. Zugleich mit der Reinigungsmethode wurde eine Untersuchung der in dem Merckschen Handelsberberin vorhandenen Verunreinigungen verbunden. Die Ergebnisse sind am Schlusse des Versuchsteils ausführlich angeführt. Neben dem Handelspräparat wurden auch andere Proben chromatographisch untersucht. Vor allem auch die Präparate, die nach irgendeinem älteren Reinigungsverfahren erhalten wurden. Dabei konnte festgestellt werden, daß keines dieser Präparate einer chromatographischen Reinheitsprobe standhielt, daß vielmehr alle mehr oder weniger als verunreinigt zu gelten hatten.

Schon vor Beginn des eigentlichen Versuchsteils kann betont werden, daß das Berberin, das auf dem numehr zu schildernden Wege zu erhalten war, den höchsten Reinheitsgrad für sich in Anspruch nehmen darf.

c. Beschreibung der Versuche.

1. Das Adsorptionsmittel.

Für den Erfolg jeder chromatographischen Analyse ist die Wahl des Adsorptionsmittels wesentlich. Es kommen fast alle festen Stoffe in Betracht, die von dem benutzten Lösungsmittel weder gelöst noch sonst irgendwie angegriffen werden. Bisher wurden verwendet: die Oxyde, Hydroxyde und Karbonate des Kalziums, Aluminiumoxyd (meist in aktivierter Form), Magnesiumoxyd, Natriumsulfat, Tonsil, Talkum, Silikagel, Puderzucker u. a. Am meisten benutzt wird heute das nach Brockmann standardisierte Aluminiumoxyd-Merck. Es wird in der Weise hergestellt, daß es zunächst fein vermahlen durch ein engmaschiges Sieb gepreßt und dann 2 Stunden lang im Kohlendioxydstrom auf 200° erhitzt wird.

Nachdem Ruggli und Jensen[1]) bei Untersuchungen über organische Farbstoffe ein Aluminiumoxyd reinst, wasserfrei von E. Merck, durch Behandeln mit Leitungswasser aktiviert, als geeignetes Adsorptionsmittel gefunden hatten, prüften wir diese ebenfalls und konnten damit gute Ergebnisse erzielen. Als besonderer Vorteil kommt dazu, daß das Aluminiumoxyd Merck billiger als das standardisierte nach Brockmann ist. Nach einem Vorschlag von R. Frank[2]) verfährt man zur Herstellung eines ausgezeichnet adsorbierenden, aktivierten Aluminiumoxyds folgendermaßen:

100 g des Ausgangsstoffes werden dreimal mit Leitungswasser aufgeschlemmt und dekantiert. Nach dem Trocknen im Trockenschrank wird das Aluminiumoxyd etwa eine Stunde lang mit einem Teklubrenner unter zeitweiligem Rühren mit einem Metallspatel stark erhitzt. Das so erhaltene Pulver wird zur Erzielung eines guten Verteilungsgrades und zur Vermeidung von größeren Klumpen durch ein engmaschiges Sieb geschüttelt.

Auf der Suche nach einem geeigneten Adsorptionsmittel wurden natürlich mit mehreren Stoffen Chromatogramme aufgenommen. Als gänzlich ungeeignet erwies sich Carboraffin, da es Berberin aus der alkoholischen Lösung adsorbiert. Das von der Firma Heyden hergestellte 100%ige Chlorsilber-Kieselsäuregel („Silargel") setzte dem Durchsaugen der alkoholischen Lösung zu großen Widerstand entgegen, was ebenso der Fall war bei Füllungen mit Kalziumsulfat und Kalziumkarbonat. Am besten bewährte sich eine Füllung mit aktiviertem Aluminium-

1) Helv. chim. Acta **18**, 624 (1935).

2) Arch. **275**, 128 (1937).

oxyd, die gewissermaßen als Vorstufe Kalziumkarbonat aufgesetzt enthielt.

2. Das Lösungsmittel.

Um durch das Lösungsmittel auftretende Adsorptions- und Lumineszenzfehler unter der Quarzlampe gegebenenfalls von Anfang zu vermeiden, wurde besonders gereinigter Alkohol verwendet: Dieser wird mit Aktivkohle zwei Stunden am Rückflußkühler erhitzt und dann abdestilliert. Von dem Destillat wird nur die mittlere Fraktion zur Herstellung der Lösung benutzt. Zur chromatographischen Analyse gelangt eine 0,1%ige Berberinhydrochloridlösung. Zur nachträglichen Elution bedient man sich desselben gereinigten Alkohols.

3. Apparatur und Arbeitsweise.

Für die Versuche wurde zunächst eine von Winterstein und Stein[1]) angegebene Apparatur benutzt. Auf einer Saugflasche sitzt ein einfacher Vorstoß. In diesem ist ein beiderseits offenes Glasrohr mittels eines Gummistopfens eingefügt. Das Glasrohr, welches die Füllung enthält, wird nach unten zunächst mit einem engmaschigen Kupferdrahtnetz und dann mit einem weitmaschigen Drahtnetz verschlossen. Oben setzt man dem Glasrohr einen Scheidetrichter auf, der die zu chromatographierende Lösung enthält. Die Saugflasche schließt man unmittelbar an die Wasserstrahlpumpe an. Diese Versuchsanordnung hat sich in der Folgezeit leider nicht bewährt, da einerseits beim Ansaugen leicht kleine Mengen der Füllung mit in die Saugflasche geschwemmt werden, wodurch das regelmäßige Fließen in der Säule behindert wird und die zu chromatographierende Lösung „Spuren zieht", andererseits die Anordnung zu orientierenden Versuchen nicht in so kleinen Dimensionen gewählt werden kann, daß dabei ihre leichte Handhabung gewährleistet ist.

Wenn hier von orientierenden Versuchen die Rede ist, so sei kurz erwähnt, daß es sich im Laufe der Untersuchungen als nötig erwiesen hat, von jeder Lösung und jedem zu prüfenden Adsorptionsmittel Reihenversuche zu unternehmen, die zeigen sollen, unter welchen Bedingungen die chromatographische Adsorption am günstigsten erfolgt. Für diese orientierenden Versuche hat sich die folgende Apparatur recht gut bewährt:

1) Ztschr. physiol. Chem. **220**, 247 (1933).

Auf einer Nutschflasche ist ein Vorstoß und auf diesem wieder die aus Uviolglas bestehende Adsorptionsröhre von 20 cm Länge und 1 cm lichter Weite aufgesetzt. Die Nutschflasche steht durch einen Dreiwegehahn nach der einen Seite mit einem Vakuumexsikkator, nach der anderen Seite mit einer Wasserstrahlpumpe in Verbindung. Man kann so mehrere Adsorptionsröhren zu gleicher Zeit anschließen, was sich für die Reihenversuche als praktisch erweist. Das Adsorptionsrohr ist nach unten durch einen einfach durchbohrten Korken und einem daraufliegenden Wattebausch verschlossen.

Wenn durch diese kleine Apparatur die günstigsten Umstände für die chromatographische Aufnahme ermittelt worden waren, dann wurde zur Untersuchung größerer Mengen die folgende Versuchsanordnung angewendet.

Ein Rohr von 50 cm Länge und 3,2 cm lichter Weite sitzt auf einem zylinderförmigen Scheidetrichter auf. Dieser besitzt ein Fassungsvermögen von 200 ccm, einen Durchmesser von 4 cm und eine Länge von 30 cm. Er ist oben durch einen luftdicht schließenden 2 mal durchbohrten Gummistopfen verschlossen. In einer Öffnung befindet sich der Vorstoß mit dem Adsorptionsrohr, durch die zweite Öffnung wird ein mehrmals rechtwinklig gebogenes Glasrohr zu einem Dreiweghahn geführt, wodurch der Scheidetrichter mit dem Vakuumexsikkator oder mit der Wasserstrahlpumpe in Verbindung gebracht werden kann.

Für die Analyse wird das Rohr in der Weise mit dem Adsorptionsmittel beschickt, daß man es trocken einfüllt und nachdem die ganze Apparatur zusammengestellt ist, mit dem betreffenden Lösungsmittel durch Ansaugen anfeuchtet. Um ein Aufwirbeln des Pulvers beim Aufgießen zu vermeiden, wird auf das Adsorbens ein rundes Papierfilter gelegt. Dann wird die zu chromatographierende Lösung langsam zugegeben und der Abfluß so geregelt, daß pro Sekunde ein bis zwei Tropfen aus der Röhre ausfließen. Das Aufgießen der zu untersuchenden Flüssigkeit und auch des Elutionsmittels geschieht in der Weise, daß das Adsorptionsmittel immer nur mit einer Schicht von wenigen Millimeter Flüssigkeit bedeckt ist. Dieser Zufluß kann ja leicht durch den aufgesetzten Scheidetrichter geregelt werden.

Man sei möglichst darauf bedacht, das Adsorptionsmittel stets feucht zu halten, da auf diese Weise am besten die lästige „Spurenbildung“ vermieden wird. Werden im Chromatogramm keine glatten Farbringe erhalten, so liegt das an nicht

gleichmäßiger Verteilung des Adsorptionsmittels, oder daran, daß irgendwelche Fremdkörper vorhanden waren, wodurch der gleichmäßige Fluß der Lösung durch die Säule gehindert wird.

Hat man die Röhre in einem Fluß mit Lösungsmittel beschickt und durch Elutionsmittel entwickelt, so stoppt man den Versuch dann, wenn sich die Farbzonen auseinandergezogen haben. Die kleinen Uviolröhrchen, die etwa 10 ccm der 0,1%igen Berberinhydrochloridlösung bei einer Füllhöhe von 15 cm aufnehmen und orientierenden Versuchen dienen, werden nur unter der Quarzlampe zur Feststellung der Schichten nach der Elution betrachtet. Die großen Versuchsröhren hingegen, die bis zu 200 ccm der 0,1 %igen Berberinlösung fassen, werden, nachdem die reine alkoholische Berberinlösung durchgelaufen ist, zur Erfassung der verunreinigenden Stoffe eluiert und extrahiert. Dies kann entweder so geschehen, daß man solange Elutionsflüssigkeit nachtropfen läßt, bis die einzelnen Farbzonen nacheinander hinausgewaschen werden oder man kann die Füllung unter der Quarzlampe herausstoßen und das mit den einzelnen Verunreinigungen behaftete Adsorptionsmittel mit dem jeweiligen Extraktionsmittel behandeln. Als solches dient gewöhnlich Wasser, das die einzelnen Verunreinigungen leicht und ohne besondere Vorbereitungen aus dem Adsorbens extrahiert.

4. Versuchsergebnisse.

Auf Grund der Angaben von Neugebauer und Brunner[1]) konnte erwartet werden, daß bei der chromatographischen Untersuchung einer Berberinlösung das Berberinhydrochlorid als das Salz einer quartären Base durch die Säule unberührt hindurchgeht, während alle Verunreinigungen zurückgehalten und absorbiert werden. Dieser Durchgang ist rein äußerlich schon an der sich langsam nach unten ziehenden rein gelben Färbung des Berberinhydrochlorids zu beobachten, während sich die dunkler gefärbten Begleitstoffe oben festsetzen. In der filtrierten Lösung wird dann die Prüfung auf die einzelnen Komponenten durchgeführt.

Berberin nach Gordin[2]): 2—3 ccm des klaren Filtrats werden mit etwa 10%iger Kaliumjodidlösung versetzt. Der entstehende Niederschlag ist für Berberin beweisend, wenn auch nicht spezifisch.

1) Pharm. Zentralhalle **161**, (1938).
2) Arch. **240**, 146 (1902).

Berberin nach Dietzel[1]) mit Wagners Reagenz (KJ_3) entsteht eine Fällung.

Dieses Verfahren hat den Vorzug, daß es zu einem quantitativen ausgewertet werden kann. Ein ähnlicher Niederschlag wird mit Mayer Reagenz ($K_2[HgJ_4]$) erhalten.

Mikrochemischer Nachweis nach Herder: Das Berberin gibt in wäßriger Lösung mit Cäsium- bzw. Bariumquecksilberjodid einen Niederschlag, der sofort unter dem Mikroskop betrachtet, ohne spezifische Kristallform ist. Er zeigt sich käsig zusammengeballt, aus sehr kleinen Teilen bestehend und schön goldgelb. Bei längerem Stehen wird der Niederschlag kristallinisch (drusenförmige Kristallanordnung). Chlorion: die Reaktion auf Chlorion wird in bekannter Weise mit Silbernitrat durchgeführt.

Die durch die Säule gewanderte alkoholische Lösung enthält also tatsächlich Berberinhydrochlorid. Da dieselbe reichlich verdünnt ist (es kommt eine 0,1 %ige Lösung von Berberinhydrochlorid zur Anwendung), muß man ein ziemliches Volumen chromatographieren um eine größere Menge Berberinhydrochlorid zu erlangen. Die alkoholische Lösung wird im Vakuum eingedampft, wodurch schon von vornherein einer eventuellen Zersetzung des Berberins durch allzu starkes Erhitzen vorgebeugt wird. Man destilliert im Vakuum solange Alkohol ab, bis aus der Lösung die ersten Kristalle des Berberinhydrochlorids auszufallen beginnen. Dann unterbricht man die Destillation und saugt den Rest des Lösungsmittels im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure ab. Auf diese eben beschriebene Weise erhielten wir schöne, hellgelb gefärbte Nadeln. Für den Reinheitsgrad dieses chromatographisch gereinigten Berberinhydrochlorids ist sein Schmelzpunkt in hohem Maße ein Gradmesser:

Die auf mikrochemischem Wege nach Kofler durchgeführten Schmelzpunktbestimmungen ergeben für:

Berberinhydrochlorid-Merck ohne besondere Reinigung einen Schmelzpunkt von 195°, für

Berberinhydrochlorid nach Perkin gereinigt einen solchen von 190°, für

Berberinhydrochlorid, chromatographisch gereinigt, einen solchen von 205° (unter Zersetzung).

Für das auf chromatographischem Wege gereinigte Berberinhydrochlorid ergaben sich nach 48-stündiger Trocknung

1) R. Dietzel und W. Paul Südd. Apoth. Ztg. **76**, 474 (1936).

2) Arch. **244**, 120 (1906).

im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure die folgenden Mikroanalysenwerte:

Analyse des Berberinhydrochlorids.
15,26 mg, 4,683 mg, 4,399 mg Substanz: 30,255 mg, 9,284 mg, 8,702 mg CO_2 und 7,937 mg, 2,271 mg, 2,329 mg H_2O.

3,368 mg Substanz: 9,68 ccm N_2 (21°, 739 mm).

Analye:	$C_{17}H_{20}NO_4HCl$		+ $4\,H_2O$	(409,67)
	berechnet		gefunden	
C	54,13	54,02	54,07	53,95
H	5,86	5,82	5,95	5,79
N	3,16			3,23

Die in der Adsorptionsröhre zurückgebliebenen Stoffe wurden als Verunreinigungen angesehen. Sie setzten sich in den folgenden Zonen ab (Abb. 1a und 1b):

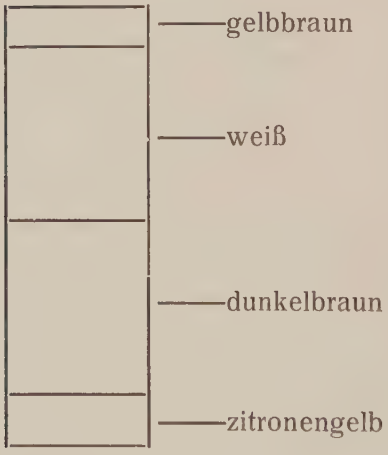


Abb. 1a
im Tageslicht

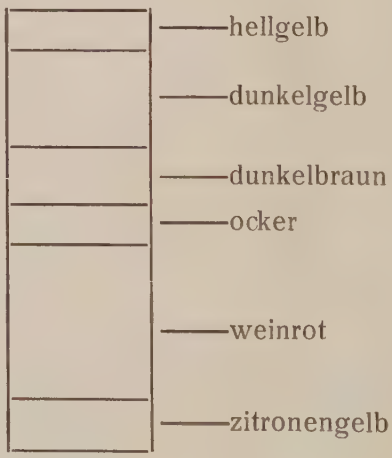


Abb. 1b
im Ultravioletten

Im oberen Teil der Röhre tritt eine gelbbraune Zone auf, der eine graurosa, oft auch farblos erscheinende Zone folgt. An diese schließt sich eine deutlich dunkelbraune Zone an, die bei allen Präparaten sehr stark hervortritt. Den Abschluß bildet eine zitronengelbe, von Berberin herrührende Zone. Die einheitliche weiße Mittelschicht zeigt unter der Quarzlampe bei

Beobachtung durch eine U. V. Schwarzglasplatte eine deutliche Aufteilung in mehrere Schichten, während die bei Tageslicht dunkelbraun erscheinende Zone auch im Ultravioletten einheitlich erscheint.

Wegen dieser Einheitlichkeit war es diese Schicht, die von uns zunächst einer näheren Untersuchung unterzogen wurde.

Nach Erkennung der Lage der Schicht und ihrer Lumineszenz mit Hilfe der Uviolröhrchen werden die Adsorptionsversuche zur Gewinnung größerer Mengen der unbekannten Substanz, mit den großen Röhren ausgeführt. Nach einem Durchlauf von jeweils 150—200 ccm einer 0,1%igen Berberinhydrochloridlösung wird die Säule zunächst mit Alkohol entwickelt. Dadurch wird einmal die zitronengelbe Berberinhydrochloridlösung aus dem Adsorptionsrohr hinausgetrieben, und zum anderen werden die Farbzonen in der Röhre auseinandergezogen. Unter der Quarzlampe wird dann die Säule herausgestochen. Die dunkelbraune (weinrot lumineszierende) Zone wird in einem besonderen Erlenmeyerkolben gesammelt. Durch mehrmaliges Schütteln mit Wasser wird der adsorbierte Stoff vom Adsorbens gelöst. Die wäßrige Lösung wird im Vakuum eingedampft und im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Es bilden sich rote Kristalle.

Schmelzpunkt 285° (mittels des Mikroschmelzpunktapparates). Die Kristalle geben mit den üblichen Alkaloidreagenzien die folgenden Färbungen:

Konzentrierte Schwefelsäure: grünliche Färbung.

Konzentrierte Salpetersäure: Auflösung mit violetter Farbe, die beim Verdünnen mit Wasser in gelbrot überschlägt.

Fröhdes Reagenz: Auflösung mit gelbroter Farbe, die in violett umschlägt.

Analyse der Substanz:

7,583 mg, 6,536 mg Substanz: 19,655 mg, 17,044 mg CO_2 und 2,546 mg, 2,763 mg H_2O.

2,14 mg Substanz: 8,28 ccm N_2 (19°, 735 mm).

Analysenergebnisse: $C_{19}H_{15}NO_4$ (321).

	berechnet	gefunden		
C	71,03	70,69	71,05	
H	4,69	4,73	4,73	
N	4,36			4,11

Der Schmelzpunkt und die Analysenergebnisse, sowie die Alkaloidreaktionen stimmen vollkommen mit einer Substanz

überein, die Frerichs[1]) bei längerem Erhitzen von Berberin erhielt und die er „Berberrubin“ nannte.

Die nach den übrigen älteren Verfahren erhaltenen Substanzen zeigten bei orientierenden chromatographischen Versuchen mit den Uviolröhren die bewußte braune Zone in höherem Maße als das Merck'sche Handelspräparat. Es müssen also vor allem durch die verschiedenen Arten der Trocknung Veränderungen am Berberinmolekül eingetreten sein.

Eigene Versuche zur Trocknung des chromatographisch gereinigten Berberinhydrochlorids seien hier kurz angeführt. Trocknung bei 100° im Trockenschrank: die zitronengelbe Farbe des Berberins macht allmählich einer immer tiefer gehenden Braunfärbung Platz. Im Chromatogramm der 0,1%igen Lösung tritt Berberrubin auf.

Trocknung im Vakuumtrockenapparat bei 80° (Benzol) unter Durchleiten von Luft: die in der Vakuumpistole vorgenommene Trocknung zeigt dasselbe Ergebnis, jedoch tritt die Färbung von zitronengelb nach braun erst nach drei Stunden ein. Präparat zeigt bei der chromatographischen Aufnahme wieder Berberrubin an.

Bei Trocknung im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure hält die zitronengelbe Farbe des reinen Berberins an und die Chromatogramme zeigen keine Verunreinigungen mehr an. Allerdings muß die Trocknung im Vakuumexsikkator bis zur restlosen Entfernung des Lösungsmittels mindestens 48 Stunden durchgeführt werden.

Ob die anderen Verunreinigungen konstitutionsmäßig dem Berberrubin nahestehen oder nicht, kann gegenwärtig noch nicht entschieden werden. Möglicherweise handelt es sich um Phenolbasen. Darüber soll später berichtet werden.

III. Spektrographische Untersuchungen des reinen Berberins.

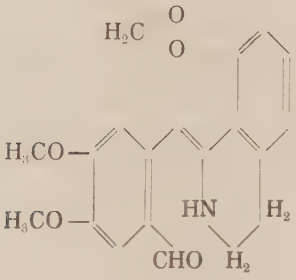
Auf chromatographischem Wege gereinigtes Berberinhydrochlorid ist hellgelb. Im Gegensatz hiezu ist das Handelsberberinhydrochlorid (Merk) und auch dasjenige, welches nach den älteren Reinigungsmethoden erhalten wurde, von viel dunklerer Farbe.

1) Arch. **248**. 276 (1910).

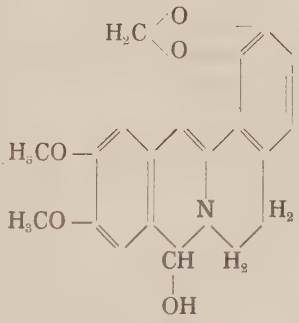
Da die Alkaloide fast alle farblos sind und nur ganz wenige, wie z. B. das Sanguinarin und das Harmalin lediglich gefärbte Salze bilden, war auf Grund der obigen Beobachtung der Gedanke naheliegend, daß Berberinhydrochlorid ebenfalls farblos sei und die gelbe Farbe von schwer zu entfernenden Verunreinigungen herrühre. Diese Auffassung erwies sich jedoch als trügerisch, denn auf chromatographischem Wege war eine weitere Aufhellung nicht zu erzielen, selbst nicht nach oft wiederholtem Durchlaufen durch die Adsorptionsröhre.

Die Färbung des Berberins ist demnach chemisch-konstitutiv bedingt. Im Laufe diesbezüglicher Untersuchungen wurden früher von Gadamer[1]) angestellte Versuche in folgender Weise modifiziert.

Gadamer versetzte die wäßrige Lösung von Berberinsulfat mit überschüssiger Natronlauge und erhielt eine nahezu farblose Lösung. Außerdem bildete sich ein Niederschlag, der mit alkoholhaltigem Äther geschüttelt, von diesem leicht aufgenommen wurde. Für diese Substanz nahm Gadamer die folgenden Konstitutionsformeln an. (Formel 3 und 4).



Formel 3
„Berberinal"



Formel 4
Carbinolform

Die in Formel (3) angenommene Aldehydgruppe versuchte er dadurch nachzuweisen, daß er das zugehörige Oxim bildete. Bildung und Existenz dieses Oxims wurden später von Tinkler[2]) bestritten. Er bewies, daß es sich bei dem Berberinal-

1) Arch. **243**, 31 (1905).
2) Soc. **99**, 1340 (1911).

oxim um ein α-substituiertes Hydroxylamin handelte, das sich nicht von der, Berbinal genannten, Aldehydform ableitet, sondern von der in Formel (4) dargestellten Carbinolform.

Im Laufe der Untersuchungen machten wir die folgenden Beobachtungen:

Versetzt man eine Lösung von Berberinhydrochlorid in absolutem Alkohol mit einem Überschuß von Alkali, ebenfalls in absolutem Alkohol gelöst, so erhält man eine klare, farblose Lösung. Bei Zusatz von Wasser färbt sich diese farblose Lösung wieder gelb. Wir nehmen an, daß diesen Vorgang eine intramolekulare Umlagerung des Berberins zu Grunde liegt. Dies versuchten wir auf spektrographischem Wege zu beweisen.

Unseren Überlegungen lagen folgende Gedankengänge zugrunde:

Wenn beim Hinzufügen von überschüssigem Alkali zu einer gefärbten Berberinsalzlösung tätsächlich eine farblose Berberinbase entsteht, sei es die, „Berbinal" genannte Aldehydform oder die von Tinkler angenommene Karbinolform, so muß beim Hinzufügen von Wasser eine intramolekulare Umlagerung eingetreten sein. Da diese Umlagerung sich durch Auftreten von Farbe anzeigt, so muß der Übergang von der farblosen tertiären in die gefärbte quartäre Berberinbase von einer Wasseraufnahme herrühren. Gelingt es zu beweisen, daß das Adsorptionsspektrum der alkoholischen Berberinhydrochloridlösung mit dem dieser angenommenen quartären Base identisch ist, so muß letztere als die beständigere gelten. Sie entsteht durch Wasseraufnahme aus der tertiären Base.

a. Arbeitsweise.

Innerhalb eines homogen absorbierenden Mediums erfolgt die Lichtschwächung durch Absorption nach dem Gesetz von Lambert.

Die Schwächung ist nach demselben in jedem Schichtelement ds proportional der, in das Schichtelement eindringenden Intensität, also:

$$-\frac{dJ}{ds} = \varepsilon \cdot J$$

(ε = Extinktionskoeffizient). Integriert man zwischen den Grenzen s = o und s = d so erhält man, wenn die eintretende Lichtintensität mit J_o (für s = o) bezeichnet wird:

$$\ln \frac{J_0}{J} = \varepsilon \cdot d.$$

sowie durch Umformung:

$$\varepsilon = \frac{1}{d} \cdot \log \frac{J_0}{J}$$

Die Extinktion ist nach Beer unverändert, wenn das Produkt aus Schichtdicke d und Konzentration c gleich bleibt, wenn also

$$d_1 \cdot c_1 = d_2 \cdot c_2$$

vorausgesetzt, daß zwischen Lösungsmittel und gelöstem Stoff keine Reaktion eintritt, die eine Änderung des gelösten Stoffes bewirkt.

Diese Gleichung benutzt man zur Berechnung des Extinktionskoeffizienten. Es braucht also nur das Verhältnis J_0/J der beiden Intensitäten bekannt sein, die absolute Intensität selbst interessiert nicht. Bei Anwendung der Methode von Scheibe[1]) erhält man dieses Verhältnis aus der Stellung des Sektors. J/J_0 stellt die Lichtschwächung in der Untersuchungslösung dar, die an der Stelle gleicher Schwärzung in den übereinanderliegenden Doppelspektren gleich der bekannten Lichtschwächung durch den Sektor ist. Der Quotient ist also gegeben durch die Sektorstellung.

Die im folgenden beschriebenen Messungen wurden mit einem Quarzspektographen (Leiss, Berlin) ausgeführt. Daten der Aufnahmen: Eisen-Funken; Spaltweite 3/100 mm; Belichtung: 120 sec (Lösung), 12 sec (Vergleichslösung); Scheibe Sektor mit 120 U/min; 10% Sektorstellung (Aufnahme der Kurve 1 mit 2,5%). Perutz-Dünnschicht Platte A. Graphische Darstellung als $\log \varepsilon/\text{Å}$-Kurven, nach Auswertung im Meßmikroskop.

b. Versuchsergebnisse.

Das wie früher beschriebene chromatographisch gereinigte Berberinhydrochlorid wird 48 Stunden lang im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Die hellgelbe Substanz vom Schmelzpunkt 205° (auf mikrochemischen Wege bestimmt) wird in absolutem Alkohol aufgelöst. Konzentration: 1g/50000 ccm ($5{,}384 \cdot 10^{-5}$molar). Diese Lösung liefert das in Tabelle 1

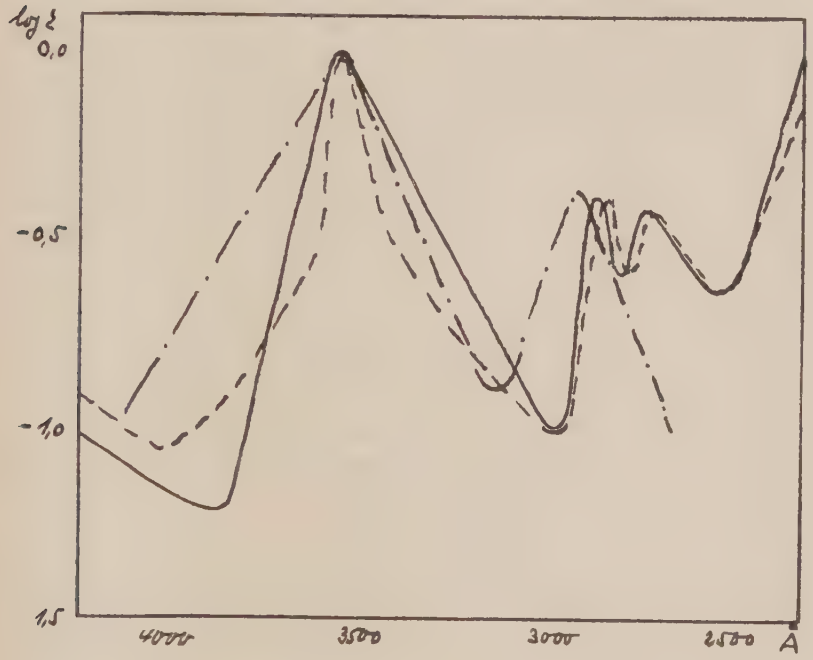
1) Scheibe, F. May und H. Fischer, Ber. **57**. 1330 (1924).

wiedergegebene Spektrum. Die Absorptionskurve zeigt ein Maximum bei 3500 Å, das sie in steilem Anstieg erreicht, um dann ebenfalls ziemlich steil zu einer Kulmination bei 2980 Å abzusinken. Zwischen den beiden folgenden Maxima bei 2860 und 2760 Å ist noch eine Kulmination bei 2700 Å festzustellen. Diese letztere Kulmination erhält man allerdings mit genügender Genauigkeit erst bei einer Sektorstellung von 2,5%, da bei dieser Einstellung das Vergleichsspektrum soweit geschwächt ist, daß eine genaue Beobachtung erreicht werden kann. Auch wiederholte Aufnahmen mit chromatographisch gereinigtem Berberinhyrdrochlorid zeigten dieses dritte Maximum. In die Tabelle wurde auch der über 3800 Å liegende Teil des Spektrums mit aufgenommen, da dieses Gebiet für die sichtbare Färbung des Berberins maßgebend ist.

Zu der eben diskutierten alkoholischen Lösung von Berberinhydrochlorid wird jetzt Alkali, das ebenfalls in absolutem Alkohol aufgelöst ist, hinzugefügt. Damit die Konzentration der Lösung nicht verändert wird und die gewonnenen Aufnahmen miteinander verglichen werden können, werden 250 ccm der alkoholischen Lösung etwas eingedampft. Durch Hinzufügen von 0,5 ccm gesättigter alkoholischer Kaliumhydroxydlösung wird entfärbt und die ursprüngliche Konzentration durch Auffüllen von 250 ccm wieder hergestellt. Die von der entfärbten Lösung, die nach T i n k l e r die Carbinolform enthalten soll, gewonnene Absorptionkurve zeigt ebenfalls Tabelle 1. Diese Kurve hat zwei Maxima, sie liegen bei 3540 Å und bei 2900 Å. Die zwischen diesen beiden Maxima befindliche Kulmination liegt bei 3160 Å. Eine Absorption oberhalb 3800 Å ist hier nicht zu erkennen. Die durch die Reaktion in der Lösung zu erwartenden Unregelmäßigkeiten in der Endabsorption sind nicht miteingezeichnet, um das klare Bild nicht zu verwischen.

Von der eben untersuchten Lösung werden etwa 50 ccm auf dem Wasserbad abgedampft und 40 ccm Leitfähigkeitswasser hinzugegeben. Dann wird mit absolutem Alkohol bis zur Marke aufgefüllt, wodurch die ursprüngliche Konzentration wieder hergestellt wird. Dabei kehrt die gelbe Farbe wieder zurück. Die entsprechende Absorptionskurve ist in Tabelle 1 wiedergegeben. Sie zeigt, abgesehen von durch die Versuchsmethodik bedingten

kleinen Abweichungen, Übereinstimmung mit der Absorptionskurve des Berberinhydrochlorids.



—— Berberinhydrochlorid in Alkohol 1 : 50000
—·— Berberinhydrochlorid in Alkohol 1 : 50000 + 0,5 ccm KOH in OHC
– – – – Berberinhydrochlorid in Alkohol 1 : 50000 + 0,5 ccm KOH in OHC + 40 ccm H_2O

1 : 50000 = $5{,}38 \cdot 10^{-5}$ molar.

Tabelle 1

c. Erläuterungen zu den Versuchen.

Ammoniak und einsäurige Amine vermögen ein Äquivalent einer Säure z. B. 1 Mol Salzsäure zu addieren, wobei ein als Ammoniumsalz bezeichnetes Additionsprodukt entsteht. Die alte Valenztheorie gibt hierfür die Erklärung, daß dabei der

Stickstoff aus dem dreiwertigen in den fünfwertigen Zustand übergeht. Demgemäß schreibt man die Strukturformel mit fünf vom Stickstoff ausgehenden „Valenzstrichen". Versuche mit den so entstandenen „Onium"-verbindungen zeigen, daß es sich bei einer dieser fünf „Valenzen" nicht um eine direkte Bindung, sondern um eine Ionen-Beziehung handelt.

Es erscheint nach neuerer Theorie angebracht auf den Begriff „Valenz" zu verzichten. Man verstand darunter in der klassischen Strukturlehre entweder eine „Bindung" (wobei man später zwischen „ionogener" und „nicht-ionogener" Bindung unterschied) oder auch die „Wertigkeit" eines Atoms.

Die Elektronen-Theorie[1]) führt uns zu folgenden exakten Definitionen:

Eine Bindung liegt vor, wenn zwei Atomen ein Elektronen-Paar gemeinsam zugehört. Zwischen den durch eine Bindung verknüpften Atomen wirken quantenmechanische Austauschkräfte, zu denen noch elektrostatische Coulomb-Kräfte hinzutreten, die in dem Maße zunehmen, wie die Bindung polarisiert wird.

Zwischen Ionen besteht keine Bindung, sondern nur ein Zusammenhalt durch elektrostatische Coulomb-Kräfte: eine Ionen-Beziehung.

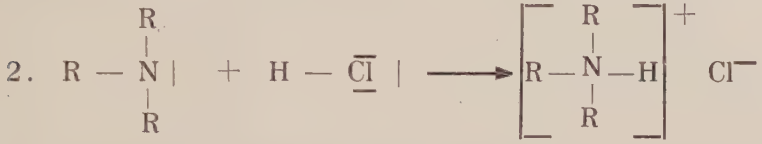
Dieser letztere Fall liegt in der entstandenen „Onium"-verbindung vor. Zwischen Stickstoff und Chlor liegt kein gemeinsames Elektronenpaar. Wie erklärt sich nun die Elektronentheorie die Bildung dieser Verbindungen höherer Ordnung? Das chemische Verhalten dieser Elemente wird dadurch bestimmt, daß sie das Bestreben haben, Edelgasstruktur anzunehmen. Man spricht allgemein vom „Oktettprinzip". Die Bildung eines Amins wird auf Grund dieses Prinzips an Hand der folgenden Gleichung veranschaulicht:

$$1.\ \cdot\dot{\underset{\cdot}{\mathrm{N}}}: \quad + \quad 3\,\mathrm{R}\cdot \longrightarrow \mathrm{R}:\ \overset{\mathrm{R}}{\underset{\mathrm{R}}{\dot{\ddot{\mathrm{N}}}}}:$$

NR_3 enthält ein „nicht-anteiliges" (unshared), sogenanntes einsames Elektronenpaar. Jedes dieser einsamen Elektronenpaare (die man in der Elektronentheorie mit einem Strich längs des Sympols kennzeichnet) kann grundsätzlich anteilig werden, indem es sich in eine Oktettlücke einlagert. Die Elektronentheorie sieht die ausschließliche Ursache für die Bindung von Verbindungen höherer Ordnung in den einsamen Elektronenpaaren,

1) Bernd Eistert: „Tautomerie und Mesomerie" Verlag F. Enke Stuttgart 1938.

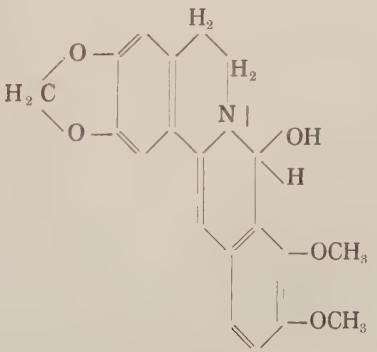
die mindesten eine der Ausgangsverbindungen besitzen muß, wenn es überhaupt zu einer Addition kommen soll. Eine Vereinigung von Amin und Säure wird dann nach Gleichung 2 gedeutet:



Der Chlorwasserstoff dissoziiert in wäßriger Lösung in H^+ und $\overline{Cl}$. Das elektronenlose Proton wird mit dem einsamen Elektronenpaar des Stickstoffes anteilig. Aus dem ungeladenen Molekül NR_3 wird das plus 1-wertige Ammonium-Komplex-Ion, das in Ionenbeziehung zum Cl^- tritt.

Die vier Liganden des Stickstoffs im Ammoniumkation sind sämtlich in gleicher Weise an das Zentralatom gebunden, nämlich durch je ein Elektronenpaar. Es besteht also kein Unterschied zwischen diesen vier wirklichen Bindungen. Man kann folgenden genetischen Zusammenhang feststellen: drei der Bindungen sind in der Weise entstanden, daß jeder Partner je ein Elektron beisteuert, das Elektronenpaar der vierten Bindung stammt von einem Partner, nämlich vom Stickstoff. Man symbolisiert, wenn ein besonderer Hinweis hierauf nötig ist, eine solche „koordinative" Bindung durch einen vom Elektronen-Donator ausgehenden Pfeilstrich.

In der farblosen Berberinbase liegt nach Tinkler die Carbinolform vor. Die Elektronentheorie würde für diese das folgende Formelbild annehmen (Formel 5).



Formel 5

Wir haben festgestellt, daß bei Hinzufügen von Wasser diese farblose Verbindung in die gefärbte quartäre Base übergeht. Dieser Übergang läßt sich elektronentheoretisch in der Weise rechtfertigen, daß man den Stickstoff mit seinem einsamen Elektronenpaar als Donator auffaßt.

Der Benzolkern versucht dann in seine alte Konfiguration zurückzukehren, d. h. es wird eine Abspaltung von Wasser eintreten.

Damit ist der Übergang der Carbinolform in die gefärbte quartäre Berberinform auf elektronentheoretischem Wege erklärt.

IV. Versuche zur Oxydation des Berberins.

Deutschland führt zur Gewinnung einiger arzneilich wichtiger Stoffe eine Anzahl von Naturprodukten in großer Menge aus Übersee ein. Von deutschen Forschern ist schon immer versucht worden, von dieser Einfuhr unabhängig zu werden, was bei einer ganzen Reihe von Präparaten bereits gelang. Einer der Stoffe, die wir noch aus dem Naturprodukt gewinnen müssen, ist das Hydrastinin. Aus dem Rhizom von Hydrastis canadensis (Ranunculaceae) gewinnt man zunächst das physiologisch weniger wichtige Hydrastin, um durch Oxydation mit Kaliumpermanganat oder Salpetersäure zum therapeutisch wertvollen Hydrastinin zu gelangen, das hierbei neben Opiansäure entsteht. Hydrastinin kontrahiert die Gefaße und bewirkt dadurch Blutdrucksteigerung. Es findet in der Gynäkologie ähnliche Verwendung wie die Mutterkornpräparate. Bei diesem Herstellungsvorgang fällt in weitaus größerem Maße ein „Nebenalkaloid“ an, das auch in vielen unserer einheimischen Ranunculaceen zu finden ist, das Berberin. Dieses in Berberis vulgaris zu 6,5% vorkommende Alkaloid zeigt im strukturellen Bau eine große Ähnlichkeit mit den beiden anderen Alkaloiden: Hydrastinin und Hydrastin.

Es lag deshalb der Gedanke nahe, das Berberin das in reicher Ausbeute zu gewinnen ist, in Hydrastinin überzuführen.

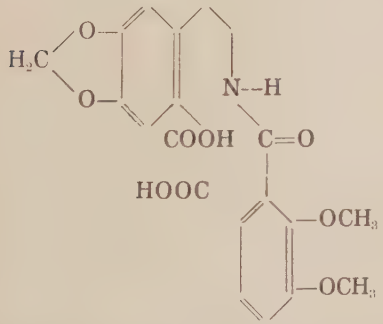
Eine Reihe dahinzielender Versuche unternahm früher Freund in Gemeinschaft mit seinen Mitarbeitern[1]). Der von ihnen begangene Weg ging von dem aus Benzylmagnesiumsalz und Berberin gewonnenen Benzyldihydroberberin aus. Sie

1) Ann. **397**, 1 (1913).

reduzierten die Verbindung zum α — Benzyltetrahydro - Berberin, stellten dessen Jodmethylat her und verkochten es mit Alkali; hierbei erfolgt Ringsprengung. Das Zwischenprodukt wird durch Oxydation in zwei Teile zerlegt, von denen der eine mit Hydrastinin identisch ist. Dieses Verfahren ist unrationell, da die Ausbeuten der Teilreaktionen nur gering sind.

Pyman[1]) versuchte in anderer Weise das Problem zu lösen, wobei er von der Annahme ausging, daß die Berberinbase in dem Isochinolinring zwei Doppelbindungen besitzt, die als Angriffspunkte für eine Oxydation in Frage kommen können. Um die eine derselben zu schützen und zugleich bei der darauffolgenden Oxydation an der anderen eine Spaltung zu erzielen, stellte er Berbinaceton dar. Bei der Oxdation mit Kaliumpermanganat erhielt er daraus einen Stoff, den er Neooxyberberin nannte. Dieser soll in chloroformiger Lösung bereits beim Stehen an der Luft in Hydrastinin übergehen.

Mit einer direkten Oxydation des Berberins mittels Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung befaßt sich ferner eine Untersuchung von Perkin[2]). Dabei erhielt er „Berberilsäure", die er in folgender Weise formuliert:



Berberilsäure
$C_{20}H_{19}O_9N$

Durch kochen mit Schwefelsäure läßt sich diese in ω-Aminoäthylpiperonylsäure ($C_8H_5O_2$—$C_2H_4N\,H_2$) und Hemipinsäure ($C_{10}H_{10}O_6$) spalten. Die erstere wird zum entsprechenden Aldehyd reduziert, Methylhalogenid an die endständige NH_2-gruppe angelagert und dem entstehenden Chlorid schließlich durch Alkali Halogen entzogen.

Die Versuche, die Perkin mit Kaliumpermanganat als Oxydationsmittel an Berberin vornahm, führten zu dem Ergebnis,

1) Soc. **99**, 1690 (1911).
2) Loc. cit.

daß nebeneinander eine große Anzahl von Oxydationsprodukten entstanden, von denen folgende aufgeführt seien:

Berberilsäure	$C_{20}H_{19}O_9N$
Anhydroberberilsäure	$C_{20}H_{17}O_8N$
Berberal	$C_{20}H_{17}O_7N$
Berilsäure	$C_{20}H_{15}O_8N$
Dioxyberberin	$C_{20}H_{17}O_6N$
Oxyberberin	$C_{20}H_{17}O_5N$

Dabei ist diese Reihe noch nicht einmal vollständig, denn Hemipinsäure, die immer nebenbei entsteht, wurde von Perkin nicht aufgezählt, jedoch ist offensichtlich, daß Berberilsäure das Endprodukt der langen Oxydationsreihe darstellt.

Perkin ging in der Weise vor, daß er 7 g salzsaures Berberin in 200 ccm Wasser bei 70° auf dem Wasserbad löste. Es wurde dann 1 g Kaliumkarbonat zugesetzt und bei einer Temperatur von 70° mit einer sehr heißen Lösung von Kaliumpermanganat (9 g in 250 ccm Wasser) tropfenweise versetzt. Nach dem Erkalten wurde Schwefeldioxyd eingeleitet, bis das ausgeschiedene Mangandioxyd in Lösung gegangen war. Dabei blieb ein gelber, flockiger Niederschlag zurück, der aus Berberal, Anhydroberberilsäure und Berberilsäure bestand, während Oxyberberin, Dioxyberberin und Berilsäure gelöst blieben. Der Niederschlag wurde dreimal mit Wasser ausgewaschen und auf einem Tonteller getrocknet. Durch Erwärmen des Rückstandes mit 15%iger Natriumkarbonatlösung bei 40°, der etwas Ammoniak zugesetzt war, wurden Berberilsäure und ihr Anhydrid in Lösung gebracht und nach dem Abfiltrieren durch Zusatz von Salzsäure gefällt. Die abgeschiedene Berberilsäure wurde abgesaugt und getrocknet. Die Ausbeute betrug nach Angabe 7%.

Die von uns vorgenommenen Versuche gingen dahin, die Ausbeuten an Berberilsäure zu erhöhen. Wir suchten dies zunächst dadurch zu erreichen, daß wir die Oxydation so leiteten, daß Anhydroberberilsäure entsteht, da sich diese nach der Gleichung:

$$C_{20}H_{17}O_8N + 2\,KOH = C_{20}H_{17}K_2O_9N + H_2O$$

mit Kalilauge in das Salz der Berberilsäure umsetzt, aus dem sich auf Zusatz von Säure Berberilsäure abscheidet. Dieser Weg, der auf Grund unserer Versuche an sich gangbar ist, wurde später nach der Auffindung eines geeigneten Verfahrens wieder aufgegeben.

Kaliumpermanganat in kaliumkarbonathaltiger Lösung als Oxydationsmittel.

Bei den ersten Versuchen die unternommen wurden bedienten wir uns eines Verfahrens von R. Dietzel und K. Söllner[1]), bei welchem 200 ccm einer kaliumkarbonathaltigen wäßrigen Berberinhydrochloridlösung (7 g auf 200 ccm) verwendet und mit einer Lösung von 11 g Kaliumpermanganat in 250 ccm Wasser oxydiert wurden. Die Oxydation lieferte 0,72 g Berberilsäure entsprechend etwa 9% der theoretischen Ausbeute. Bei diesem Verfahren trat auch wie bei den übrigen ein Übelstand in Erscheinung, nämlich die starke Verharzung der Berberilsäure. Durch eine andere Behandlung des Oxydationsgutes versuchten wir, eine von den Verharzungen möglichst freie Berberilsäure zu erhalten, wobei wir uns wieder der chromatographischen Adsorptionsmethode bedienten.

7 g Berberinhydrochlorid wurden mit 1 g Kaliumkarbonat in 200 ccm Wasser auf dem Wasserbad bei 70° gelöst. Zu der dunkelbraunen Lösung wurde eine heiße Lösung von 11 g Kaliumpermanganat in 200 ccm Wasser tropfenweise unter stetem Umrühren zugefügt. In das erhaltene Gemisch wurde zur Entfernung des Braunsteins Schwefeldioxyd eingeleitet, bis sich eine gelbe schaumige Masse gebildet hatte, die durch Absaugen von der Mutterlauge getrennt und mehrere Male mit Wasser nachgespült wurde. Das Trocknen dieses Oxydationsproduktes geschah im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure. Bei der weiteren Behandlung gingen wir von der Tatsache aus, daß Berberilsäure in Methanol löslich ist. Durch Digerieren des Oxydationsproduktes mit Methanol ging die Berberilsäure in Lösung und wurde der chromatographischen Reinigung unterzogen. Orientierende Versuche mit Aluminiumoxydfüllungen (nach Brockmann) ließen jedoch erkennen, daß auf diesem Wege keine Reinigung zu erzielen war. Es kam zwar zur Abscheidung einer braunen Zone, aber bei der Elution entstanden braune Farbzonen, sodaß die Trennung des Reaktionsgemisches nicht erreicht werden konnte.

Der verbliebene Rückstand wurde mit einer 15%igen Natriumkarbonatlösung, der etwas Ammoniak zugesetzt war bei 40° ausgewaschen. In die alkalische Lösung ging Berberilsäure über und konnte daraus durch Ansäuern mit Salzsäure wieder gewonnen werden. Sie war nach dem Waschen und Trocknen

1) Dissertation Univ. München 1929.

von hellbrauner Farbe, was von Beimengungen an Harzen herrührt. Eine an dieser Stelle einsetzende chromatographische Reinigung der methylalkoholischen Lösung der Berberilsäure führte ebenfalls zu keinem Ergebnis, da es nicht zur Ausbildung von Farbzonen kam, ohne die eine Extraktion nicht durchzuführen ist.

Wir versuchten deshalb mit anderen Oxydationsmitteln die Überführung des Berberins in Berberilsäure zu erreichen und verfuhren hierbei folgendermaßen:

Cerisulfat als Oxydationsmitttel.

Eine Lösung von 5 g Berberinhydrochlorid und 200 ccm Wasser wurde bei 70° mit 14 g Cerilsulfat, gelöst in 50 ccm Wasser, sowie mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure tropfenweise versetzt. Die gelbe Farbe der Lösung schlug hierbei nach dunkelbraun um und beim Ansäuern mit Salzsäure kristallisierten nach längerem Stehen büschelförmige Nadeln aus, die wie Schmelzpunktbestimmungen zeigten unverändertes Berberin darstellen. Da diese Oxydation bei einem kleinen p_H durchgeführt und keine Einwirkung erzielt worden war, wurde zunächst das p_H der Lösung verändert. Dies erschien aussichtsreich, da Cersalze in karbonathaltigen Lösungen als Autoxydatoren wirken derart, daß das instabile Peroxyd der Gleichung 1 im alkalischen Medium durch Wasser zerstört wird unter Bildung von blutrotem Peroxyd,

1. $Ce(OH)_3 + O_2 + Ce(OH)_3 \longrightarrow Ce(OH)_3{-}O{-}O{-}Ce(OH)_3$

2. $Ce(OH)_3{-}O{-}O{-}Ce(OH)_3 + H_2O \rightarrow Ce(OH)_4 + Ce(OH)_3{-}O{-}OH$

welches seinen verfügbaren Sauerstoff an oxydierbare Stoffe abgibt.

In eine Lösung von 5 g Berberinhydrochlorid in 250 ccm Wasser wurde, nach Zusatz von 10%igem kaliumkarbonathaltigem Wasser, Sauerstoff unter gleichzeitigem Hinzutropfen von 15%iger wäßriger Cerisulfatlösung eingeleitet. Das gebildete Peroxyd wirkte jedoch auf Berberinhydrochlorid nicht ein, sodaß beim Erkalten das Alkaloid wieder unverändert auskristallisierte.

Arsensäure als Oxydationsmittel.

Eine Lösung von 5 g Natriumarseniat in 50 ccm heißem Wasser wurde tropfenweise zu einer erwärmten Lösung von 5 g Berberinhydrochlorid in 200 ccm Wasser gegeben. Nach

dem Erkalten schied sich Berberinhydrochlorid fast quantitativ wieder aus. Demnach erwies sich auch Arsensäure als ungeeignet für die Oxydation.

Wasserstoffsuperoxyd als Oxydationsmittel.

Unter den gleichen Bedingungen wie im vorigen Versuch, wurden 10 ccm Perhydrol als Oxydationsmittel benutzt. Das Reaktionsgemisch wurde längere Zeit auf dem Wasserbad stehen gelassen. Dabei trat nach einiger Zeit ein leichtes Aufbrausen ein und beim Abkühlen fielen braune Flocken aus. Sie wurden abgesaugt und mit 15%iger Natriumkarbonatlösung, die etwas Ammoniak enthielt, digeriert. Nach der Filtration erhielt man aus der dunkelbraunen Lösung mit Salzsäure eine Ausfällung von Berberilsäure, die leider zu einer Analyse nicht ausreichte. Von einer Weiterverfolgung dieses Weges sahen wir deshalb ab, da mit Kaliumpermanganat größere Ausbeuten erzielt worden waren.

Kaliumpermanganat unter Zusatz von Natronlauge als Oxydationsmittel.

Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat wurde eine Lösung von 5 g Berberinhydrochlorid in 200 ccm Wasser mit 1 g Ätznatron versetzt und dann durch tropfenweises Hinzufügen von Kaliumpermanganatlösung (11 g auf 200 ccm Wasser) die Reaktion in Gang gebracht. Die gebildete Berberilsäure hatte den Vorzug großer Reinheit, da anscheinend durch den Zusatz der Lauge ein Mitfallen der Harze verhindert wird. Die Ausbeute betrug jedoch nur 0,1% der Theorie.

Kaliumpermanganat unter Zusatz von Natriumkarbonat als Oxydationsmittel.

Auch hier trafen wir wieder die gleiche Versuchsanordnung wie bei den übrigen Permanganatoxydationen. Wir erhielten zwar eine größere Menge des Oxydationsgutes, es war aber sehr stark verharzt. Deshalb wendeten wir das folgende bereits von Perkin angegebene Reinigungsverfahren an. Die Berberilsäure wurde mit wenig Methanol als knetbare Masse zwischen den Fingern geknetet, wobei der größte Teil des Harzes an den Fingern hängen blieb. Der Rest wurde aus Methanol umkristallisiert und das Reinigungsverfahren mehrmals wiederholt. Das Verfahren bedeutet aber keine wesentliche Verbesserung, da wegen starker Verharzung viel Berberilsäure verloren geht.

Selenige Säure als Oxydationsmittel.

5 g Berberinhydrochlorid wurden in 200 ccm Wasser bei 70° auf dem Wasserbad gelöst. Unter mechanischem Rühren wurde hiezu eine Lösung von 5 g seleniger Säure in 80 ccm Wasser fließen lassen. Es trat außer der üblichen Braunfärbung der Lösung keine weitere Veränderung ein. Nach dem Abkühlen wurde zunächst die Probe auf Berberin nach Dietzel und Paul mit Wagners Reagenz durchgeführt, die positiv ausfiel. Beim Erkalten kristallisierte Berberin in den charakteristischen büschelförmigen Nadeln aus.

Caro'sche Säure als Oxydationsmittel.

Nach Baeyer[1]) verwendet man Sulfomonopersäure in folgender Weise zur Oxydation: 11 g konzentrierte Schwefelsäure werden in einer Reibschale mit 10 g Kaliumpersulfat verrieben, nach 10 Minuten langem Stehen 30 g gepulvertes Kaliumsulfat hinzugegeben und mehrmals solange verrieben, bis ein ganz trockenes Pulver entsteht. Oxydationsversuche mit dieser festen Sulfomonopersäure verliefen an Berberin negativ ebenso wie die Versuche mit der flüssigen Caro'schen Säure (aus der dreifachen Menge Schwefelsäure und Wasser bereitet). Die Oxydation greift nicht bis zur Berberilsäure durch.

Benzoylperoxyd als Oxydationsmittel.

Zu einer Lösung von 2 g Berberinhydrochlorid in 150 ccm Wasser wurde eine Aufschlemmung von 5 g Benzoylperoxyd hinzugefügt. Die nach einiger Zeit eintretende lebhafte Sauerstoffentwicklung bewirkt jedoch keine Reaktion, wie entsprechende Identifizierungsreaktionen zeigten.

Kaliumhypochlorit in Gegenwart von Kaliumpermanganat als Oxydationsmittel.

Es wurde zunächst eine Javellelauge so hergestellt, daß in eine 10%ige Lösung von Kaliumkarbonat solange Chlor eingeleitet wurde, bis eine Kohlendioxydentwicklung zu beobachten war. 200 ccm dieser Lauge wurden einer Lösung von 5 g Berberinhydrochlorid in 200 ccm Wasser hinzugefügt. Dabei wurde beobachtet, daß die gelbe Lösungsfarbe des Berberins nach dunkelbraun umschlägt. Beim tropfenweisen Zusatz einer Lösung von 11 g Kaliumpermanganat in 200 ccm Wasser trat eine stürmische Reaktion ein. In das erkaltete Gemisch wurde

1) Baeyer und Villiger Ber. **32**, 3628 (1899).

zur Entfernung des Braunsteins Schwefeldioxyd eingeleitet. Nach Auswaschen mit Wasser und Trocknen wurde das Oxydationsgut mit Natriumkarbonatlösung ausgelaugt. Aus der alkalischen Lösung fiel mit Schwefelsäure ein brauner Niederschlag aus, der sich in Methanol in der Hitze löste und in der Kälte wieder ausfiel. Schon an dieser Eigenschaft erkannten wir, daß keine Berberilsäure vorlag. Wahrscheinlich war die Oxydation schon bis zur Hemipinsäure fortgeschritten. Es gelang auch vorläufig nicht durch Änderung der Versuchsbedingungen die Oxydation so abzustoppen, daß als Endprodukt hauptsächlich Berberilsäure entsteht.

Elektrolytische Oxydation.

Eine Lösung von 5 g Berberinhydrochlorid in 200 ccm Wasser wird mit 100 ccm 3%igem Wasserstoffsuperoxyd versetzt, mit 2 Platinelektroden versehen und mit 30 Volt 13 Stunden lang oxydiert. Schon nach kurzer Zeit wird ein Farbumschlag von gelb nach dunkelrot wahrgenommen. Aber selbst nach der verhältnismäßig langen Elektrolysendauer scheidet sich keine unlösliche Berberilsäure ab. Zur Kontrolle wurde die Lösung unter möglichst schonenden Bedingungen auf dem Wasserbad eingedampft. Man erhält dabei die früher bei der Chromatographie erwähnten roten Kristalle. Die Reaktionen auf Berberrubin fallen positiv aus. Wir änderten dann die Versuchsbedingungen durch Variation der Spannung ab. Höhere Spannung bewirkt ein Verkohlen der Substanz und bei niedrigeren Spannungen tritt die Bildung von Berberrubin erst nach längerer Zeit ein.

Katalytische Oxydation.

Hahn[1]) verwendete im hiesigen Institut bereits einen Osmiumkatalysator: Zu einer gemäß den üblichen Vorschriften bereiteten Berberinhydrochloridlösung wurde ein Osmiumkatalysator (1% Osmium auf Calciumkarbonat niedergeschlagen) gegeben und die so bereitete Lösung mit einer Lösung von 5,6 g Kaliumchlorat in heißem Wasser tropfenweise versetzt. Nach dem Erkalten erhielt er büschelförmige Nadeln, die positive Berberinreaktion lieferten. Wir verwendeten anstelle von Kaliumchlorat Benzoylperoxyd. Bei Anwendung von Palladium als Katalysator (1% Palladium auf Calciumkarbonat niedergeschlagen) verlief die Reaktion sehr stürmisch. Die von Zeit zu Zeit entnom-

1) Liebig — Arbeit, die im hiesigen Institut angefertigt wurde, unveröffentlicht.

menen Proben des Reaktionsgemisches zeigten aber mit KJ_3 positive Reaktion. Berberilsäure war nicht nachzuweisen.

In gleicher Weise mißlang auch eine katalytische Oxydation des Berberins unter Verwendung von Vanadinpentoxyd und Cerisulfat in alkalischer Lösung.

Aus den vielen Oxydationsversuchen geht demnach hervor, daß Kaliumpermanganat das geeignetste Oxydationsmittel darstellt. Nach dieser Feststellung wurden die Oxydationsbedingungen unter Verwendung von Kaliumpermanganat variiert, um möglichst günstige Berberilsäureausbeuten zu erhalten. Dies erreichten wir schließlich bei folgender Versuchsanordnung.

Kaliumpermanganat bei Gegenwart von Natriumbikarbonat als Oxydationsmittel.

7 g chromatographisch gereinigtes Berberinhydrochlorid (Merck) werden in 200 ccm Wasser auf dem Wasserbad bei 70° gelöst und mit 2 g Natriumbikarbonat versetzt. Unter ständigem mechanischen Rühren wird aus einem Scheidetrichter eine heiße Lösung von 15 g Kaliumpermanganat in Wasser zufließen lassen. Es ist dafür Sorge zu tragen, daß die Temperatur 70° nicht wesentlich überschreitet. Nach beendeter Reaktion kühlt man unter der Wasserleitung auf 40° ab. Bei dieser Temperatur leitet man zur Entfernung des Braunsteins Schwefeldioxyd ein. Es ist von uns empirisch festgestellt worden, daß bei dieser Temperatur eingeleitetes Schwefeldioxyd keine allzu starke Verharzung des Oxydationsgutes bewirkt. Ständiges Umschwenken der Lösung hält Verharzung ebenfalls hintan. Das hellgelbe Oxydationsgut wird nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator mit Wasser aufgeschwemmt und mit einer 15%igen Natriumkarbonatlösung der etwas Ammoniak zugesetzt ist bei 40—50° längere Zeit digeriert. Von den Oxydationsprodukten gehen Berberilsäure und Anhydroberilsäure in Lösung und aus der braunroten Flüssigkeit fällt auf Zusatz von verdünnter Schwefelsäure die Berberilsäure in hellgelben Flocken aus. Die Ausbeute beträgt 2 g, d. h. annähernd 30% der Ausgangssubstanz.

Eine Schwierigkeit bei der Reindarstellung der Berberilsäure ist die trotzdem noch vorhandene Verharzung, die sich nach der von Perkin angegebenen Methode nicht entfernen läßt. Wie Untersuchungen von uns ergeben haben ist die Verharzung auf die Anhydroberilsäure zurückzuführen.

Zwecks Reinigung der Berberilsäure löst man sie zunächst wieder in natron-alkalischem Wasser auf und fällt von neuem.

Aus einer Bürette läßt man 2n-Schwefelsäure bis zur Neutralisation gegen Lackmus zutropfen und fällt mit einer sehr verdünnten (etwa 1:10 normalen) Schwefelsäure den ersten Anteil der Berberilsäure aus. Diese erste Fällung reißt einen großen Teil der harzigen Verunreinigung mit sich. Nach Filtration wird der zweite größere Anteil der Berberilsäure ebenfalls mit sehr verdünnter Schwefelsäure in schön ausgebildeten Flocken, die einen leicht gelben Schimmer besitzen, abgeschieden. Der Rest der Berberilsäure wird verworfen. Die mittlere Fraktion wird noch mehrmals aus Methanol umkristallisiert und schließlich im Vakuum über Schwefelsäure scharf getrocknet.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die Oxydation des Berberins sehr schwer in der Weise zu leiten ist, daß Berberilsäure ausschließlich oder wenigstens zum größten Teil als Endprodukt entsteht. Entweder greifen die Oxydationsmittel nur sehr schwer an (Arsensäure) oder die Oxydation schießt über die Berberilsäure hinaus (Kaliumhypochlorid unter Zusatz von Kaliumpermanganat). Das am besten geeignetste Oxydationsmittel ist nach wie vor Kaliumpermanganat, wobei die Oxydation zur Erzielung guter Ausbeuten in der auf Seite 42 beschriebenen Weise zu leiten ist. Man erreicht dabei eine Ausbeute von 25—30%. Will man die Berberilsäure rein darstellen, so geht durch die umständlichen Reinigungsmethoden sehr viel dieser wertvollen Substanz verloren. Zur Herstellung von Hydrastinin ist aber reine Berberilsäure nicht unbedingt erforderlich.

V. Die Berberilsäure.

Schmelzpunktbestimmung.

Perkin schreibt zur Bestimmung des Schmelzpunktes in seiner ersten Arbeit[1]):

„Die Substanz wird am besten aus reinem Methanol gereinigt, aus dem sich die Säure nach längerem Stehen entweder in formlosen Massen oder in schmalen Platten ausscheidet. Bedeutende Schwierigkeiten bot die Bestimmung des Schmelzpunktes. Wenn man Berberilsäure rasch erhitzt, sintert sie bei ungefähr 138—140° und schmilzt dann vollständig bei 141—142° unter Gasentwicklung. Sie wird bei 155° wieder fest um bei weiterem Erhitzen bei 195—200° zu schmelzen."

In einer späteren Arbeit[2]) korrigiert er seine Angaben folgendermaßen:

1) Soc. **55**, 79 (1889).
2) Soc. **57**, 1049 (1890).

„Berberilsäure schmilzt bei ungefähr 177—182°, wobei sie gleichzeitig zerlegt wird in Wasser und Anhydroberilsäure:

$$C_{20}H_{19}O_9N = C_{20}H_{17}O_8N + H_2O$$

Dieser Schmelpunkt ist nur annähernd richtig, da die Gegenwart von Verunreinigung bewirkt, daß die Substanz bei einer niedrigeren Temperatur schmilzt."

Die erhaltene Berberilsäure wurde mikrochemisch nach Kofler[3]) untersucht. Als Schmelzpunkt soll man nach ihm den Punkt betrachten, in dem die kleinsten Teilchen der Substanz beginnen ihre Konturen zu verlieren. Bei allen mit gereinigter Berberilsäure angestellten Untersuchungen lag dieser Punkt bei 127°, während bei den verharzten Proben ein exakter Schmelzpunkt überhaupt nicht erhalten wurde. Die Proben zeigten ferner bei 148° deutliches Aufblähen und bei 200° Zersetzung. Nach einer Trocknung im Vakuumexsikkator wurde von der Berberilsäure eine Mikroanalyse durchgeführt.

Analyse der Berberilsäure.

14,956 mg, 20,358 mg, 16,26 mg, Substanz: 31,368 mg, 43,01 mg, 34,265 mg CO_2 und 6,709 mg, 8,06 mg, 6,538 mg H_2O.

3,09 mg Substanz: 9,35 ccm N_2 (21°, 736 mm).

Berberilsäure $C_{20}H_{19}O_9N$

	berechnet		gefunden	
C	57,55	57,20	57,61	57,47
H	4,55	5,02	4,43	4,5
N	3,6			3,4

Wie man erkennt besteht gute Übereinstimmung zwischen gefundenen und berechneten Werten.

Zur weiteren Identifizierung der Berberilsäure wurden einige ihrer Salze (Silber-, Zink-, Kupfersalz) hergestellt.

Eine Lösung von Berberilsäure in Kalilauge wird mit Salpetersäure gegen Lackmus neutralisiert und mit einem Überschuß von Silbernitrat versetzt. Es fällt ein weißer Niederschlag von berberilsaurem Silber aus. Das in analoger Weise bereitete Zinnsalz ist ebenfalls weiß, während das Kupfersalz grün gefärbt ist. Die Farbtöne dieser Salze der Berberilsäure sind für diese charakteristisch.

Das Absorptionsspektrum der Berberilsäure.

Das Absorptionsspektrum der Berberilsäure, welches bisher in der Literatur nicht beschrieben ist, wurde aufgenommen.

3) Loc. cit.

Es war zunächst in einem Baly-Rohr festzustellen, daß die Berberilsäure bei einer Verdünnung 1 : 50000 am besten absorbiert. Die Absorptionskurve ist einfach; sie zeigt ein Maximum bei 2900 Å, zu dem sie langsam ansteigt und fällt zu einer Wende bei 2750 Å sehr steil ab. Man kann die Kurve bis zu einem Bereich von 2690 Å verfolgen.

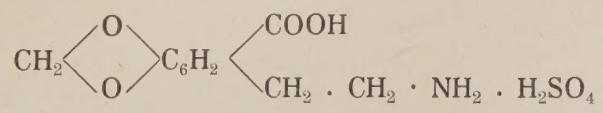
Die Hydrolyse der Berberilsäure.

Die Hydrolyse der Berberilsäure vollzieht sich nach der folgenden Gleichung:

$$C_{20}H_{19}O_9N + H_2O = \underset{\text{Hemipinsäure}}{C_{10}H_{10}O_6} + \underset{\text{ω-Aminoäthyl-piperonylsäure}}{C_{10}H_{11}O_4N}$$

Die dabei entstehende ω-Aminoäthylperonylsäure ist ein Zwischenprodukt auf dem Weg zum Hydrastinin.

Man erhält die ω-Aminoäthylpiperonylsäure auf folgendem Wege: Frisch gefällte Berberilsäure wird mit 5%iger Schwefelsäure vermischt und die Mischung unter Rückfluß längere Zeit erhitzt. Nach kurzer Zeit geht der größte Teil der Säure in Lösung; daneben fällt ein voluminöser Niederschlag von Anhydroberberilsäure aus, von dem abfiltriert wird. Das Filtrat wird auf die Hälfte eingeengt und 20 bis 30 mal mit Äther extrahiert. Dabei geht die als Nebenprodukt entstehende Hemipisäure in Lösung. Sie kann aus der ätherischen Lösung wieder gewonnen werden. Während des Ausschüttelns kristallisiert bereits ein Teil der Aminoäthylpiperonylsäure als Sulfat aus. Die Kristalle werden zweckmäßig von Zeit zu Zeit abfiltriert, da sie einen guten Fluß der ätherischen Lösung verhindern. Die Lösung, die möglichst weitgehend von der Hemipisäure zu trennen ist, wird vorsichtig auf die Hälfte eingedampft. Nach zweitägigem Stehen erhält man das Sulfat der ω-Aminoäthylpiperonylsäure. Ausbeute 68% der Theorie.



Bei einer Überführung der ω-Aminoäthylpiperonylsäure in Hydrastinin erübrigt sich eine weitere Reinigung. Man unter-

zieht die Säure zunächst einer Reduktion und behandelt das entstehende Hydroderivat mit Methylchlorid, wodurch es in Hydrastinin übergeführt wird.

Die Durchführung der Reduktion mit Methylierung bietet keine wesentlichen Schwierigkeiten. Versuche zur Festlegung der günstigsten Reaktionsbedingungen sind gegenwärtig im Gange. Über ihre Ergebnisse wird später berichtet werden.

VI. Zusammenfassung.

Im Anschluß an frühere Versuche von R. Dietzel und K. Söllner sollte ein Weg gefunden werden, um aus dem therapeutisch nicht hochwertigen Berberin, welches in einer Reihe heimischer Pflanzen in beträchtlichen Mengen zu finden ist, das für den Arzneischatz wichtige Hydrastinin zu gewinnen. Der bis jetzt zur Verfügung stehende Weg, den Freund und seine Mitarbeiter gewiesen hatten, kam als technisch unrationell nicht in Betracht. In der vorliegenden Untersuchung wurde eine von Perkin eingeschlagene Versuchsrichtung weiterverfolgt, die über die Berberilsäure zum Hydrastinin führt. Bei der Lösung dieser Frage traten einige unvorhergesehene interessante Probleme auf, die mit in den Bereich der Untersuchung eingezogen wurden.

1. Bei der Suche nach einer geeigneten Reinigungsmethode des Handelsberberins unternahmen wir chromatographische Analysen mit Aluminiumoxyd als Adsorptionsmittel. Berberin läßt sich auf diese Weise in großer Reinheit darstellen.
2. Das gelbe Berberinhydrochlorid wird, in absolutem Alkohol gelöst, mit Alkali in eine farblose Pseudobase übergeführt, die bei Zusatz von Wasser zur quartären „Onium"-verbindung zurückkehrt. Dies konnte spektographisch bewiesen und mit Hilfe der Elektronen-Theorie erklärt werden.
3. Die Oxydationsversuche erstreckten sich auf eine Reihe bekannter Oxydationsmittel. Die besten Ergebnisse wurden mit Kaliumpermanganat in Gegenwart von Natriumkarbonat erzielt, wobei die Einhaltung der beschriebenen Versuchsbedingungen Ausbeuten von 25—30% ergaben. Die gewonnene Berberilsäure läßt sich ohne weitere Reinigung auf Hydrastinin verarbeiten.
4. Zur Untersuchung der Berberilsäure wurde diese besonders gereinigt, und von dem reinen Präparat wurden einige physikalische und chemische Daten festgestellt.
5. Die weitere Verarbeitung der Berberilsäure wurde in Angriff genommen und die Hydrolyse zur ω-Aminoäthylpiperonylsäure durchgeführt.

Versuche über die Reduktion und darauffolgende Methylierung, die keine nennenswerten Schwierigkeiten bieten, sind im Gange.

Lebenslauf.

Ich, Josef Weickenmeier, wurde als Sohn des jetzigen Eisenbahnsekretärs Jakob Weickenmeier am 30. Dezember 1912 in Murnau am Staffelsee geboren.

Nach 4 Klassen Volksschule besuchte ich von 1923 ab die Oberrealschule zu Fürth in Bayern, an welcher ich im April 1932 die Reifeprüfung bestand. Darnach widmete ich mich dem Apothekerberufe und legte 1934 das pharmazeutische Vorexamen in Ansbach und im Juli 1937 das pharmazeutische Staatsexamen in Erlangen ab. Im Anschluß daran studierte ich Chemie und Lebensmittelchemie, bestand im Dezember 1938 das chemische Verbandsexamen und bin seit dieser Zeit mit vorliegender Arbeit beschäftigt.

Während meiner Studienzeit besuchte ich Vorlesungen der Herren Professoren Dietzel, Pummerer, Meuwsen, Schwemmle, Gudden, Lange.